

10277

PCT/DE 00/02753

**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

DE 00/2753

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED  
BUT NOT IN COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)



REC'D 26 SEP 2000

WIPO PCT

eJU 10/089231

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 199 46 458.8

**Anmeldetag:** 28. September 1999

**Anmelder/Inhaber:** Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der  
angewandten Forschung eV, München/DE

**Bezeichnung:** Vorrichtung und Verfahren zur Charakterisierung  
von Sphäroiden

**IPC:** C 12 M 1/42

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-  
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 14. September 2000  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Ebert

Vorrichtung und Verfahren zur Charakterisierung von  
Sphäroiden

5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein  
Verfahren zur Charakterisierung von Zellverbänden, die  
unter Mikrogravitationsbedingungen aggregiert sind.

Unter Mikrogravitationsbedingungen aggregierte 3D-  
Zellverbände, sogenannte Sphäroide, können als Modelle  
10 für gentechnologische und pharmakologische Frage-  
stellungen verwendet werden.

Der Einsatz von Sphäroiden als Modelle für  
pharmakologische und gentechnologische Fragestellungen  
15 erfordert deren Charakterisierung hinsichtlich der  
Wirkung von Pharmaka bzw. genetischen Manipulationen.

Zur Charakterisierung werden derzeit molekular-  
biologische Methoden, wie beispielsweise Nukleinsäure-  
hybridisierung oder Verwendung von Antikörpern, einge-  
20 setzt. Die Auswertung erfolgt mittels Fluoreszenz-  
Mikroskopie. Hierfür müssen jedoch mit hohem Aufwand  
Schnittpräparate angefertigt werden.

Diese Methode der Charakterisierung von Sphäroiden  
ist daher aufwendig und erfordert zu deren Auswertung  
25 erfahrenes Fachpersonal. Ein gerade für den indus-  
triellen Einsatz wünschenswerter hoher Durchsatz, die  
Möglichkeit der Automatisierung und ein zerstörungs-  
freies Charakterisieren sind mit den bisher bekannten  
Methoden nicht möglich.

30

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht  
darin, eine Vorrichtung und ein Verfahren zur  
Charakterisierung von Sphäroiden anzugeben, die einen

hohen Durchsatz, die Automatisierung sowie ein zerstörungsfreies Charakterisieren der Sphäroide ermöglicht.

- 5 Die Aufgabe wird mit der Vorrichtung und dem Verfahren nach Anspruch 1 bzw. Anspruch 7 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen des Verfahrens und der Vorrichtung sind Gegenstand der Unteransprüche.

- 10 Das erfindungsgemäße Verfahren und die erfindungsgemäße Vorrichtung beruhen auf der Charakterisierung der Sphäroide mittels Impedanz-Spektroskopie.

- Bisher wurden Bio-Impedanzmessungen eingesetzt, um Gewebe- und Organschäden zu charakterisieren und zu  
15 überwachen, für Hautstudien sowie für die Tumor- und Dentalforschung. Hierbei wurden beispielsweise Elektroden direkt mit dem Gewebe in Kontakt gebracht. Impedanz-Spektrogramme von kultivierten Zellverbänden wurden aufgenommen, indem Zellkulturen auf planaren  
20 Elektrodensubstraten kultiviert wurden und die Impedanz zwischen den Elektroden bestimmt wurde, oder indem die Zellkulturen auf Filtermembranen kultiviert wurden und die Impedanz durch Zellschicht und Filtermembran  
bestimmt wurde (vgl. z.B. J. Wegener et al., J.  
25 Biochem. Methods 32 (1996), 151-170). Ein derartiges Vorgehen ist mit Sphäroiden nicht möglich.

- 
- Beim erfindungsgemäßen Verfahren werden Sphäroide in eine Röhre eingebracht, die zumindest in einem  
30 Bereich ihrer Längsachse, im folgenden als Positionierbereich bezeichnet, einen geringeren Innendurchmesser als die Durchmesser der zu charakterisierenden Sphäroide hat. Die Röhre besteht in diesem Positionier-

bereich entweder vollständig aus elektrisch  
isolierendem Material oder weist an ihrem Innenumfang  
elektrisch isolierende Eigenschaften auf, beispiels-  
weise aufgrund einer Beschichtung mit einer  
5 Isolationsschicht.

Die Röhre, beispielsweise eine Kapillare, wird  
zunächst luftblasenfrei mit einem Kulturmedium gefüllt.  
Anschließend wird der Sphäroid in den engen  
Positionierbereich der Röhre eingebracht, so daß er  
10 aufgrund des geringeren Innendurchmessers der Röhre in  
diesem Bereich umlaufend mechanischen Kontakt zur  
Innenwandung der Röhre aufweist. Anschließend wird über  
eingebrachte Elektroden ein Stromfluß entlang der  
Röhrenachse über das Kulturmedium und den Sphäroid  
15 erzeugt und die über dem Sphäroid abfallende Spannung  
gemessen. Aus Strom und Spannung wird die Impedanz  
gebildet. Zur Aufnahme eines Impedanzspektrogramms wird  
die Impedanz des Sphäroiden über einen in der Regel  
zusammenhängenden Frequenzbereich erfaßt.

20  
Zwischen dem Impedanzspektrogramm und dem Aufbau  
des Sphäroiden bzw. dessen Veränderung, beispielsweise  
im Bereich der Zellmembran, des Zytoplasma oder des  
intrazellulären Raumes, kann ein Zusammenhang  
25 hergestellt werden, der der Charakterisierung des  
Sphäroiden dient.

Die Impedanzspektroskopie an Sphäroiden wird bei  
dem erfindungsgemäßen Verfahren gerade dadurch  
ermöglicht, daß der Sphäroid einen umlaufenden  
30 mechanischen Kontakt zur elektrisch isolierenden  
Innenwandung der Röhre aufweist, so daß bei Einspeisen  
eines Stromes kein Stromfluß über das Kulturmedium oder  
andere Wege am Sphäroid vorbei möglich ist, der zu

Fehlmessungen führen würde. Der Strom fließt aufgrund dieser Anordnung in jedem Falle durch den Sphäroiden. Es können somit Impedanzen und Impedanzspektren von Sphäroiden mit hoher Empfindlichkeit gemessen werden.

- 5 Dadurch wird die schnelle und zerstörungsfreie Charakterisierung dieser Sphäroide möglich. Insbesondere lassen sich aus den Impedanzspektren auch Parameter für automatische Testsysteme gewinnen, so daß der Test der Wirkung von Pharmaka und genetischen Manipulationen auf
- 10 Sphäroide mit einem hohen Durchsatz realisiert werden kann.

- Die erfindungsgemäße Anordnung besteht aus der Röhre aus elektrisch isolierendem Material oder mit
- 15 einer entsprechenden Beschichtung - zumindest im Positionierbereich, und weist im Positionierbereich, an dem der Sphäroid bei der Messung positioniert wird, einen Innendurchmesser auf, der kleiner als der Durchmesser des zu charakterisierenden Sphäroiden ist.
- 20 Auf einer Seite dieses Bereiches ist ein erstes Elektrodenpaar mit einer inneren und einer äußeren Elektrode angeordnet. Auf der zweiten, in Richtung der Röhrenlängsachse gegenüberliegenden Seite des
- 25 Positionierbereiches ist ein zweites Elektrodenpaar mit einer inneren und einer äußeren Elektrode angeordnet. Die innere Elektrode liegt jeweils näher am Positionierbereich als die äußere Elektrode. Die Elektroden können hierbei am Innenumfang der Röhre angebracht sein oder sich in das Innenvolumen der Röhre
- 30 erstrecken.

Die Vorrichtung weist weiterhin eine Meßanordnung zur Einspeisung eines Wechselstromes zwischen den beiden äußeren Elektroden und zur Erfassung einer

resultierenden Wechselspannung zwischen den beiden inneren Elektroden auf. Alle Elektroden müssen hierbei selbstverständlich von außerhalb der Röhre kontaktierbar sein. Die Meßanordnung kann beispielsweise aus  
5 einem kommerziell erhältlichen Impedanz-Analyzer bestehen.

Die erfindungsgemäße Anordnung ermöglicht die schnelle und zerstörungsfreie Charakterisierung von  
10 Sphäroiden. Durch die Anordnung mit dem geringen Röhrendurchmesser zur Positionierung der Sphäroide und den beidseitig in Längsrichtung der Röhre angeordneten Elektrodenpaaren haben die Shunt-Wege einen sehr hohen Widerstand und der Einfluß der Elektrodenpolarisation  
15 kann aufgrund der Anordnung der getrennten Elektroden für die Erzeugung des Stromflusses und die Messung der Spannung vernachlässigt werden. Gerade hierdurch ist es möglich, die Impedanz von Sphäroiden mit hoher Empfindlichkeit zu bestimmen, die in der Regel einen geringen  
20 Widerstand aufweisen.

Es versteht sich von selbst, daß für die Durchführung der Messung der Durchmesser der Röhre an den Durchmesser der Sphäroiden angepaßt sein muß - oder  
25 umgekehrt, da zu kleine Sphäroide keinen umlaufenden Kontakt zur Innenwandung der Röhre aufweisen würden. Die Größe von Sphäroiden liegt in der Regel im Bereich zwischen 0,1 und 0,5 mm, so daß der Durchmesser der Röhre im gleichen Bereich liegen muß.

30 Für die Charakterisierung von Sphäroiden unterschiedlicher Größe werden vorzugsweise mehrere Röhren mit unterschiedlichem Durchmesser zur Verfügung gestellt. Die einzelnen Sphäroide können hierbei

beispielsweise über ein Lochraster in der Größe vorselektiert werden. Dies gewährleistet eine jeweils reproduzierbare Messung, bei der die Sphäroide in der Röhre jeweils in gleichem Maße zusammengepreßt werden.

5

Vorzugsweise weist die Röhre auf einer oder beiden Seiten des Positionierbereichs eine trichterförmige Aufweitung auf, die das einfache und schnelle Einbringen der Sphäroide ohne Beschädigung in den Positionierbereich ermöglicht. Die Elektroden sind hierbei vorzugsweise in dem trichterförmig aufgeweiteten Bereich angeordnet und erstrecken sich radial in die Röhre hinein. Durch die Aufweitung in diesem Bereich wird das Einbringen der Sphäroide nicht durch die Elektroden behindert.

10

15

Zur Positionierung der Sphäroide in der Röhre werden diese vorzugsweise über eine auf das Kulturmedium einwirkende Pumpe in die Röhre hineingepreßt oder gesaugt. Die Kontrolle der richtigen Position kann hierbei auf optischem Wege erfolgen.

20

In einer bevorzugten Ausführungsform wird bei dem Positioniervorgang jedoch ein Stromfluß über die Elektroden erzeugt und der resultierende Widerstand gemessen. Bei korrekter Positionierung der Sphäroide steigt dieser Widerstand stark an. Diese Kontrolle kann beispielsweise über die Messung des Gleichstromwiderstandes erfolgen:

25

Selbstverständlich ist es auch möglich, die Röhre im Positionierbereich selbst trichterförmig auszugestalten, so daß mit einer Röhre Sphäroide mit unterschiedlichem Durchmesser charakterisiert werden

30

können, die sich an unterschiedlichen Stellen des trichterförmigen Positionierbereichs der Röhre festsetzen. Hierbei besteht allerdings das Problem der Reproduzierbarkeit, da die Stärke des Zusammenpressens  
5 der Sphäroide und damit deren Länge bzw. Widerstand entlang der Röhrenachse vom Anpreßdruck abhängt. Dieses Problem läßt sich mit einem konstanten Röhrendurchmesser vermeiden.

10 In einer weiteren Ausführungsform ist eine Röhre vorgesehen, bei der sich der Innendurchmesser im Positionierbereich entlang der Längsachse in Stufen ändert. Hierdurch lassen sich ebenfalls Sphäroide verschiedener Größe fixieren.

15 Durch die erfindungsgemäße Anordnung und das zugehörige Verfahren läßt sich ein Sphäroid in sehr kurzer Zeit vermessen. Die Impedanzmessung läßt sich in weniger als 1 Sekunde durchführen. Die Zeit für die Positionierung liegt im Bereich weniger Minuten oder  
20 darunter.

Insbesondere für den industriellen Einsatz ist eine arrayförmige Anordnung einer Vielzahl der erfindungsgemäßen Vorrichtungen von Vorteil, die beispielsweise unterschiedliche Durchmesser aufweisen  
25 können. Hierdurch lassen sich eine Vielzahl von Sphäroiden parallel charakterisieren. Weiterhin ermöglicht der Einsatz von Röhren mit konstantem

---

30 Querschnitt über den Positionierbereich das Einbringen der Sphäroide von einer Seite der Röhre und das Ausstoßen der Sphäroide nach der Messung auf der gegenüberliegenden Seite der Röhre, so daß in automatischen Meßsystemen ein kontinuierlicher Durchsatz erreicht werden kann.



Ein bevorzugtes Einsatzgebiet des vorliegenden Verfahrens bzw. der zugehörigen Vorrichtung liegt im Bereich der (Chemo-)Therapeutika-Testung

5 (Pharmakologie, Pharmakokinetik; Nebenwirkungen) und ihrer Wirkmechanismen. So läßt sich damit beispielsweise der Nachweis gentherapeutischer Ansätze an Krebs-Tumorsphäroiden durchführen. Mit Hilfe der Impedanzspektroskopie unter Einsatz des vorliegenden

10 Verfahrens bzw. der Vorrichtung mit positioniertem genmanipuliertem Tumorzellsphäroid können morphologische Veränderungen, Disintegration des Gewebes sowie Zunahme nekrotischer Areale anhand von Impedanzänderungen der Zellmembran in kürzester Zeit

15 reproduzierbar bestimmt werden. Der Einsatz der vorliegenden Vorrichtung stellt somit ein rasches und effizientes Nachweisverfahren bezüglich der Wirksamkeit von Genkonstrukten für den Einsatz in der Tumor-Gentherapie bereit.

20

Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen in Verbindung mit den Zeichnungen nochmals erläutert. Hierbei zeigen:

25 Fig. 1: eine Schnittdarstellung eines Ausschnitts einer Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung mit positioniertem Sphäroid;

Fig. 2: die schematische Darstellung eines Ausführungsbeispiels der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Charakterisierung von

30 Sphäroiden mittels Impedanzspektroskopie; und

Fig. 3a/b: in Schnittdarstellung zwei weitere Beispiele der geometrischen Form der Röhre der erfindungsgemäßen Vorrichtung.

5 In diesem Ausführungsbeispiel besteht die erfindungsgemäße Vorrichtung aus einer Röhre mit einem Innendurchmesser von 0,2 mm im Positionierbereich des Sphäroiden und einem Innendurchmesser von 4 mm außerhalb dieses Positionierbereichs. Eine derartige Röhre, wie sie in Fig. 1 dargestellt ist, läßt sich aus einer engen Kapillare 1 aus isolierendem Material, wie z.B. Glas, herstellen, an die beidseitig Glasröhren 2 mit größerem Durchmesser angeschmolzen werden.

10 Im vorliegenden Beispiel haben die Kapillare eine Länge von 8 mm und die Glasröhrchen eine Länge von 40 mm. Der Übergang der Innendurchmesser von Glasröhrchen 2 und Glaskapillare 1 verläuft trichterförmig.

15 In den beiden angeschmolzenen Glasröhrchen 2 ist jeweils beidseitig vom Positionierbereich in einem Abstand von 15 mm zur Mitte dieses Bereiches eine erste Bohrung und in einem Abstand von 20 mm zur Mitte dieses Bereiches eine zweite Bohrung eingebracht. Die Bohrungen haben einen Durchmesser von 0,4 mm. In die Bohrungen sind vier Platindrähte 3, 4 mit einer Länge von 10 cm und einem Durchmesser von 0,3 mm eingeklebt.

20 Die Platindrähte bilden die äußeren Elektroden 4 bzw. die inneren Elektroden 3 für die Aufnahme des Impedanzspektrogramms. Es versteht sich von selbst, daß die hier angegebenen Abstände der Elektroden zum Zentrum der Röhre nur beispielhaft zu verstehen sind, und auf die Messung keinen wesentlichen Einfluß haben. Ebenso können die Elektroden auch in anderer Weise,

beispielsweise als Beschichtung, in der Röhre angeordnet werden.

Fig. 1 zeigt weiterhin das in die Röhre luft-  
blasenfrei eingefüllte Kulturmedium 5 sowie den  
positionierten, in den Positionierbereich eingepreßten  
Sphäroid 6. Zur Durchführung der Messung werden die  
beiden äußeren Elektroden 4 mit einem Wechselstrom  
beaufschlagt. Die über das Sphäroid 6 abfallende  
Wechselspannung wird mit den beiden inneren Elektroden  
3 erfaßt.

Fig. 2 zeigt schematisch ein Beispiel für die  
vollständige erfindungsgemäße Vorrichtung. In dieser  
Figur sind wiederum der enge Positionierbereich der  
Glaskapillare 1, die beiden äußeren Glasröhrchen 2 mit  
einem größeren Innendurchmesser sowie die äußeren 4 und  
inneren Elektroden 3 zu erkennen. Zum Einbringen des  
Sphäroiden wird der Glaskörper 1,2 mit den Elektroden  
an einer Halterung befestigt. Die untere Öffnung des  
Glasrohrs wird über einen mit Kulturmedium 5 gefüllten  
Schlauch 7 - im vorliegenden Fall mit einer Länge von  
20 cm und einem Innendurchmesser von 5 mm - an ein  
Feinregelventil 8 mit Druckablaßventil angeschlossen.

Über das Feinregelventil wird das Kulturmedium so  
lange aus dem Schlauch in den Glaskörper 1,2 gedrückt,  
bis der Glaskörper vollständig mit dem Kulturmedium 5  
gefüllt ist. Anschließend wird der zu charakterisieren-  
de Sphäroid 6 durch die obere Öffnung des Glaskörpers  
in das Kulturmedium 5 eingebracht. Anschließend wird an  
die obere Öffnung des Glaskörpers ein mit Öl gefüllter  
Schlauch 9 angeschlossen. Der mit Öl gefüllte Schlauch  
ist mit seinem anderen Ende an einen beweglichen Kolben

10 angeschlossen. Danach wird das Druckablaßventil 8 geöffnet. Wenn der Sphäroid 6 durch die Schwerkraft in den trichterförmigen Übergang von Glasrohr 2 und Kapillare 1 gesunken ist, wird der Sphäroid durch  
5 geeigneten Betrieb des beweglichen Kolbens 10 zentral positioniert. Die zentrale Position ist in der Figur zu erkennen. Zur Positionierung des Sphäroiden werden durch den beweglichen Kolben über den ölgefüllten Schlauch Druckunterschiede in der Kapillare erzeugt.  
10 Nach der Positionierung verbleibt der Sphäroid 6 in der entsprechenden Position, in die er gepreßt wurde.

Die vier Platinelektroden 3, 4 werden an einen Impedanz-Analyzer, bestehend aus einer Stromquelle 11  
15 und einem Spannungsmesser 12, angeschlossen. Über die außen liegenden Elektroden 4 wird ein Strom  $i = I^* \times \sin(\omega t + \phi_i)$  eingespeist, der so geregelt wird, daß der Spannungsabfall  $u = U^* \times \sin(\omega t + \phi_u)$  über die innen liegenden Elektroden 3 etwa 10 mV beträgt.  
20 Diese Wechselspannung wird über den Spannungsmesser 12 erfaßt. Aus Strom und Spannung werden vom Impedanz-Analyser der Betrag und die Phase der Impedanz gebildet. Um das charakteristische Impedanzspektrum des Sphäroiden 6 zu erhalten, werden die Impedanzen über  
25 den Frequenzbereich von 20 Hz bis 1 MHz bestimmt.

Die Figuren 3a und 3b zeigen zwei weitere Beispiele für die geometrische Form der Röhre der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Der Röhrenquerschnitt  
30 ändert sich über den Positionierbereich 1 stufenförmig. Bei der Ausgestaltung der Figur 3b sind zusätzlich Wölbungen vorgesehen, die die Änderung der Position der Sphäroide 6 während der Messung verhindert, wenn

beispielsweise unbeabsichtigt über die den Sphäroiden umgebende Flüssigkeit leichte Kräfte auf den Sphäroiden wirken.

Beide Ausführungsformen erlauben die Aufnahme von  
5 Sphäroiden 6 unterschiedlicher Größe, wie aus den  
Figuren deutlich zu erkennen ist. Selbstverständlich  
wird bei der Messung jeweils nur ein Sphäroid in der  
Röhre fixiert. Die in den Figuren zu erkennenden drei  
Sphäroide 6 sind in diesem Beispiel nur zur  
10 Veranschaulichung gleichzeitig dargestellt. Eine  
Vorselektion der Sphäroide nach der Größe ist bei  
dieser Form der Röhren nicht erforderlich. Die  
Kontrolle der richtigen Positionierung kann  
beispielsweise optisch oder elektrisch erfolgen, wie  
15 dies bereits weiter oben erläutert wurde.

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Charakterisierung von Sphäroiden,  
bestehend aus

- 5 - einer Röhre (1, 2), die in einem Bereich (1) ihrer  
Längsachse einen Innendurchmesser aufweist, der  
kleiner als der Durchmesser der zu charakterisieren-  
den Sphäroide (6) ist, wobei die Röhre in dem  
Bereich (1) zumindest an ihrem Innenumfang aus  
elektrisch isolierendem Material besteht;
- 10 - einem ersten Elektrodenpaar (3,4) in der Röhre (2)  
auf einer ersten Seite des Bereichs (1) und einem  
zweiten Elektrodenpaar (3, 4) in der Röhre (2) auf  
einer zweiten Seite des Bereichs (1), die der ersten  
Seite gegenüberliegt, wobei jedes Elektrodenpaar  
15 (3,4) eine innere Elektrode (3) und eine äußere  
Elektrode (4) aufweist, von denen die innere  
Elektrode (3) näher an dem Bereich (1) liegt als die  
äußere Elektrode (4); und
- 20 - einer Meßanordnung (11, 12) mit einer Stromquelle  
(11), die mit den äußeren Elektroden (4) verbunden  
ist, und einem Spannungsmesser (12), der mit den  
inneren Elektroden (3) verbunden ist.

---

2. Vorrichtung nach Anspruch 1,  
25 dadurch gekennzeichnet,  
daß die Röhre (1,2) auf einer Seite oder beidseitig des  
Bereichs (1) eine trichterförmige Aufweitung aufweist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,  
daß sich die Elektroden (3,4) radial in die Röhre (2)  
erstrecken.

- 5 4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Röhre (1, 2) in dem Bereich (1) einen  
Innendurchmesser zwischen 0,1 und 0,5 mm aufweist.

- 10 5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Röhre (1, 2) aus Glas besteht.

- 15 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß sich der Innendurchmesser der Röhre (1,2) in dem  
Bereich (1) stufenförmig ändert.

- 20 7. Verfahren zur Charakterisierung von Sphäroiden mit  
folgenden Schritten:

- Bereitstellen einer Röhre (1, 2), die in einem  
Bereich (1) einen Innendurchmesser aufweist, der  
kleiner als der Durchmesser der zu  
charakterisierenden Sphäroide ist, wobei die Röhre  
25 in dem Bereich (1) zumindest an ihrem Innenumfang  
aus elektrisch isolierendem Material besteht;
- Auffüllen der Röhre (1, 2) mit einem flüssigen  
Kulturmedium (5);
- Einbringen eines Sphäroiden (6) in den Bereich (1)  
30 der Röhre (1, 2), so daß dieser einen umlaufenden  
mechanischen Kontakt zur Innenwandung des Bereichs  
(1) der Röhre (1, 2) aufweist;

- Erzeugen eines Wechselstromflusses im Kulturmedium (5) entlang der Längsachse der Röhre über den Sphäroiden (6); und
- Messung der über den Sphäroiden (6) entlang der Längsachse der Röhre abfallenden Wechselspannung.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Einbringen des Sphäroiden (6) mittels Ansaugen oder Einpressen durch Erzeugen eines Druckunterschiedes im Kulturmedium (5) durchgeführt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß eine korrekte Positionierung des Sphäroiden (6) in dem Bereich (1) über die Erzeugung und Messung eines Gleichstromes entlang der Längsachse der Röhre im Bereich (1) während des Einbringens des Sphäroiden (6) erfolgt.

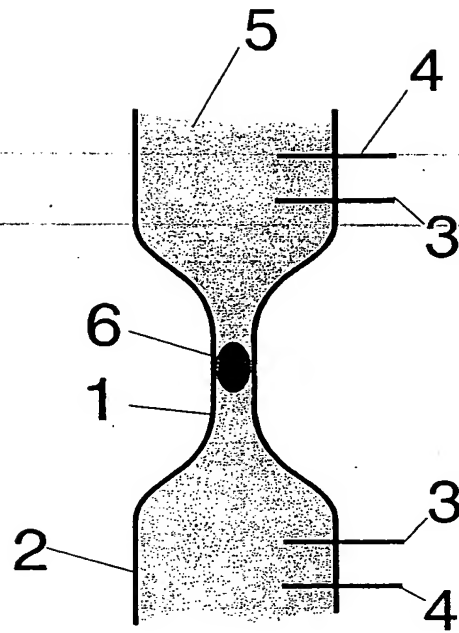
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß zu charakterisierende Sphäroide (6) vor dem Einbringen über ein Lochraster in der Größe vorselektiert werden.



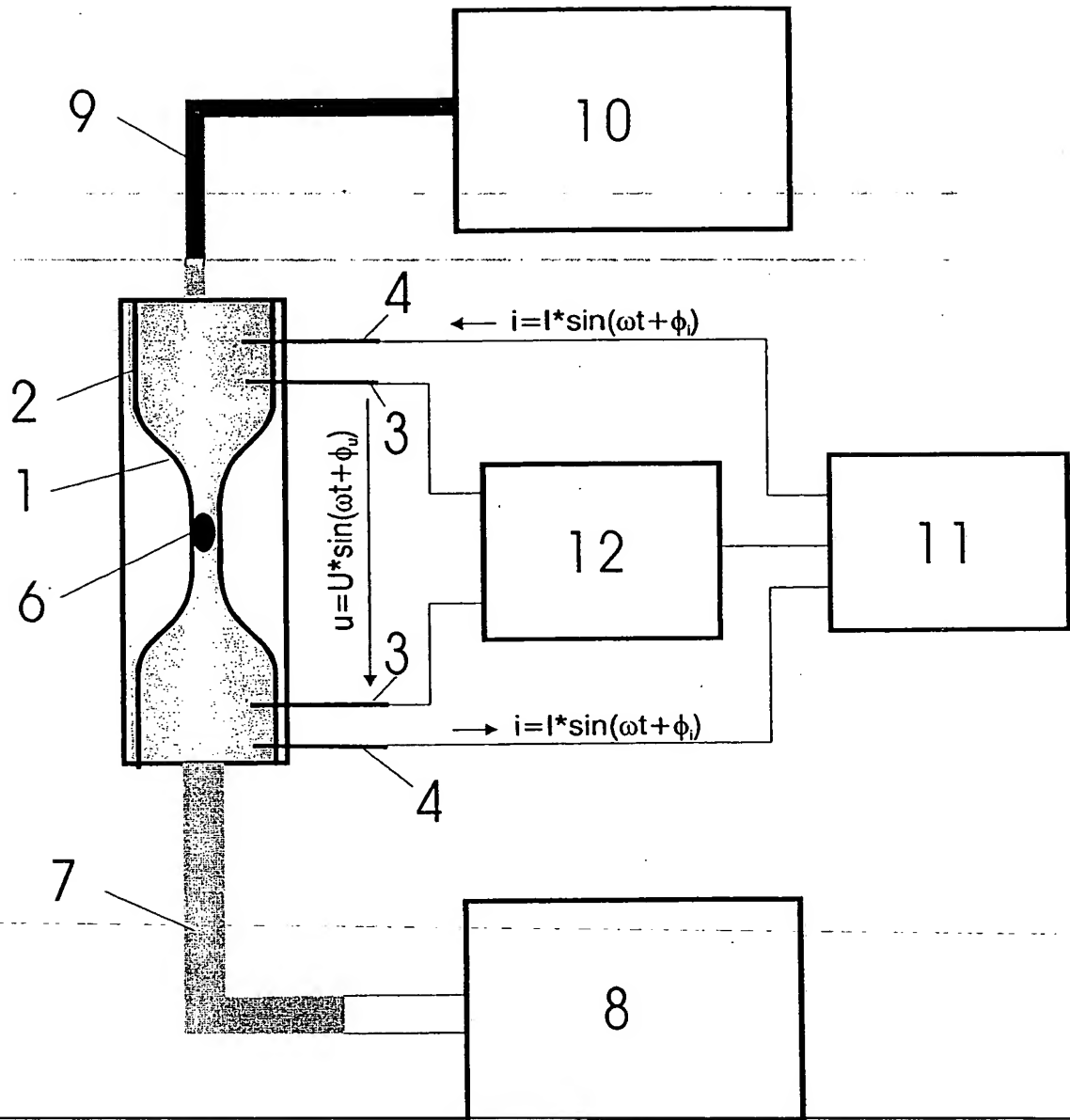
Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zur Charakterisierung von Sphäroiden.

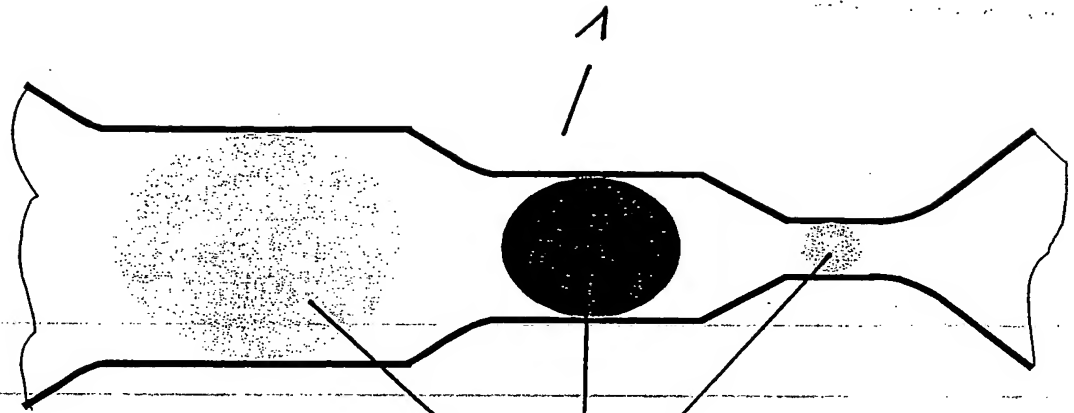
- 5 Hierbei wird der zu charakterisierende Sphäroid in eine Röhre aus elektrisch isolierendem Material und mit einem Innendurchmesser eingebracht, der kleiner ist als der Durchmesser des zu charakterisierenden Sphäroiden, so daß dieser einen umlaufenden mechanischen Kontakt
- 10 zur Innenwand der elektrisch isolierenden Röhre hat. Beidseitig des Sphäroiden sind in der Röhre Elektroden angeordnet, über die ein Stromfluß durch den Sphäroiden erzeugt und der resultierende Spannungsabfall am Sphäroiden gemessen werden kann.
- 15 Die erfindungsgemäße Anordnung und das zugehörige Verfahren ermöglichen die Aufnahme eines Impedanzspektrums von Sphäroiden mit hoher Empfindlichkeit. Dadurch wird die schnelle und zerstörungsfreie Charakterisierung von Sphäroiden realisiert.



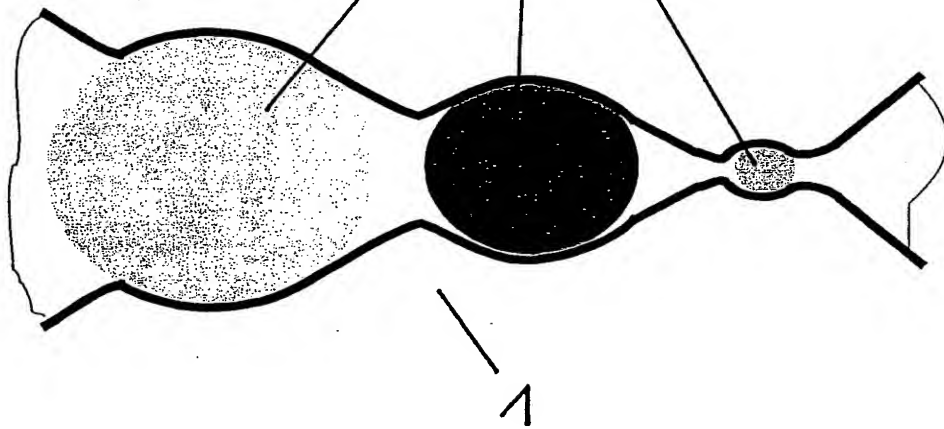
Figur 1



Figur 2



Figur 3a



Figur 3b